

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 24520071152517

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

人参皂甙肠道代谢物 Compound K 通过
Bid 介导的线粒体通路诱导人胃癌
细胞凋亡的研究

Compound K, an Intestinal Metabolite of Panaxoside, Induces
Apoptosis via Bid-mediated Mitochondrial Pathway
in Human Gastric Carcinoma Cells

胡 春

指导教师姓名: 胡天惠 教 授

宋 刚 副教授

专 业 名 称: 内 科 学

论文提交日期: 2010 年 月

论文答辩时间: 2010 年 月

学位授予日期: 2010 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2010 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘 要

胃癌是一种常见的消化系统恶性肿瘤，它严重威胁着人类的健康。然而，由于胃癌本身所具有的生物学特性，使其成为目前尚缺乏有效治疗手段的疾病。Compound K (20-O-beta-D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol, CK)，又称为IH-901 或 M1，是二醇型人参皂甙在肠道细菌作用下的最终代谢产物。研究发现，CK 具有广泛的药理作用。其中，它在抗肿瘤方面所具有的药理价值尤其引人注目。研究证实，CK 对肝癌、肺癌、大肠癌及神经胶质瘤等多种肿瘤细胞具有抑制作用。Bid (BH3 interacting death agonist) 是一个只含 BH3 结构域的具有多种功能的 Bcl-2 家族成员。研究认为，Bid 在促进细胞凋亡和 DNA 损伤修复中具有双重功能。同时，它可以通过激活不同的信号通路起到促进或抑制肿瘤发生发展的效果，且不同研究体系也可能导致 Bid 表现出不同的生物学功能。

本论文以人胃癌细胞系 BGC823、SGC7901 及裸鼠荷胃癌模型为研究对象。首先采用 MTT 法分别测定两种细胞系经不同浓度 CK 处理 24 h 和 5.0 $\mu\text{mol/L}$ CK 处理不同时间后的细胞增殖存活率。结果表明，CK 对 BGC823 和 SGC7901 细胞具有明显的存活抑制作用，它们的增殖存活率与 CK 呈剂量-时间依赖关系。为了探讨 CK 是否具有诱导人胃癌细胞发生凋亡的能力，我们采用 Hoechst33342 染色后经荧光显微镜观察和 Annexin V/PI 双染经流式细胞仪检测相结合的方法，研究证实 CK 可以有效诱导 BGC823 和 SGC7901 细胞发生凋亡。同时，我们还采用 PI 单染经流式细胞仪检测的方法，研究证实 CK 可以有效诱导 BGC823 和 SGC7901 发生细胞周期 G2 期阻滞。为了阐明 CK 诱导人胃癌细胞凋亡的分子机制，我们采用 Western Blot 的方法对经不同浓度 CK 处理 24 h 的 BGC823 和 SGC7901 细胞全蛋白进行分析，结果表明 CK 主要是通过线粒体介导的凋亡通路来诱导 BGC823 和 SGC7901 细胞发生凋亡。为了进一步了解 CK 激活线粒体通路诱导人胃癌细胞凋亡的分子机制，我们采用免疫荧光和分离细胞核、质及线粒体蛋白经 Western Blot 分析相结合的方法研究 CK 对 Bid 在人胃癌细胞内亚细胞定位的影响。结果表明，在 BGC823 和 SGC7901 细胞中，核 Bid 受 CK

影响可以转位到细胞质，部分 Bid 还可以转位到线粒体，胞质 Bid 受 CK 影响发生的转位情况具有细胞特异性。最后，我们采用裸鼠皮下成瘤模型，研究证实有效剂量的 CK 可以在裸鼠体内抑制 SGC7901 细胞的增殖生长，但未能观察到有效抑制其转移的发生。

综上所述，本论文的研究结果证实了 CK 具有抑制人胃癌细胞存活增殖及诱导凋亡发生的能力，以及 CK 诱导人胃癌细胞凋亡是通过 Bid 介导激活线粒体通路的分子机制。同时，我们还发现了 CK 影响 Bid 在人胃癌细胞内的亚细胞定位具有细胞特异性。这些结果不仅可以更加详细地揭示其诱导人胃癌细胞凋亡的分子机制，而且提出了 Bid 在人胃癌细胞内可能具有生物学新功能的问题。通过这些研究，较为详细地阐明了 CK 在体内外对人胃癌细胞存活增殖的抑制作用与机制，为其作为基于 Bid 分子靶点的抗胃癌药物开发奠定理论基础。

关键词：胃癌；Compound K；Bid；凋亡

Abstract

Gastric carcinoma is one of common malignant tumors from human digestive system, and it is a serious threat to human health. However, it has not been effectively treated so far because of its biological characteristics. Compound K (20-O-beta-D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol, CK), also known as IH-901 or M1, is an intestinal bacterial metabolite of panaxoside. CK has a wide range of pharmacological effects. Especially, it is important that CK has anti-tumor effects. Studies confirmed that CK can inhibit a variety of tumor cells, for example, hepatoma, lung carcinoma, colorectal carcinoma, glioma, etc. Bid, a BH3 domain-only agonist, is a BH3-only Bcl-2 family member with multiple functions. Studies suggest that Bid has dual functions on inducing apoptosis and DNA damage repair in cells. It can also induce the activation of different signaling pathways to promote or inhibit the tumor development, and it can show different biological functions in different research systems.

Human gastric carcinoma cell lines BGC823, SGC7901 and the model of human gastric carcinoma xenograft in nude mice were studied. First of all, we determined the viabilities of the cell lines treated by different concentration of CK for 24 h and 5.0 $\mu\text{mol/L}$ CK for different time periods. The results show that CK can significantly inhibit the viabilities of human gastric carcinoma cell lines BGC823 and SGC7901 in a dose-time dependent manner. We combined Hoechst33342 staining and Annexin-V/PI staining assays to investigate whether CK can induce human gastric carcinoma cells apoptosis. We found that CK induced BGC823 and SGC7901 cells apoptosis, using fluorescent microscopy and flow cytometry respectively. We also found that CK induced BGC823 and SGC7901 cell cycle arrest in G2 by PI staining. To further clarify the apoptotic molecular mechanisms of human gastric carcinoma cells induced by CK treatment, we analyzed the total proteins of BGC823 and SGC7901 cells treated by different concentration of CK for

24 h using Western Blotting assay. The results show that CK induces apoptosis in BGC823 and SGC7901 cells mainly through mitochondria-mediated internal pathway. To show the clear site-specific effect of Bid in BGC823 and SGC7901 induced by CK, we combined immunofluorescence and cell fractionation methods and found that the translocation of nuclear Bid is induced by CK and it translocated to cytoplasm or mitochondria, and the translocation of cytosolic Bid may be cell-type specific. Finally, we found that the effective dose of CK inhibited the proliferation of SGC7901. However, the effect of CK on spontaneous gastric carcinoma metastasis has not been clearly demonstrated in the nude mice.

Conclusions: our studies confirm that CK can inhibit the viabilities and induce apoptosis, and clarify that it induces apoptosis via Bid-mediated mitochondrial pathway in human gastric carcinoma cells. Moreover, we observe the site-specific effect of Bid in human gastric carcinoma cells induced by CK. These results not only reveal the apoptotic molecular mechanisms of human gastric carcinoma cells induced by CK, but also suggest that Bid may have some new functions in human gastric carcinoma cells. Our study provides mechanisms of CK on the viabilities and apoptosis of human gastric carcinoma cells, which may lead to its possible development into an effective drug targeting Bid on gastric carcinoma therapy.

Key Words: Gastric carcinoma; Compound K; Bid; Apoptosis

目 录

第 1 章 引言	1
1.1 Compound K 的抗肿瘤研究	1
1.1.1 CK 诱导肿瘤细胞凋亡	2
1.1.2 CK 抑制肿瘤细胞的侵袭转移	3
1.1.3 CK 抑制肿瘤血管生成	4
1.1.4 CK 引起肿瘤细胞周期阻滞	4
1.1.5 CK 逆转肿瘤细胞耐药性	4
1.1.6 CK 诱导 DNA 损伤修复	5
1.1.7 CK 的放射增敏效应	5
1.2 Bid 与肿瘤	5
1.3 本课题研究的目标、内容与意义	8
第 2 章 实验材料与方法	9
2.1 实验材料	9
2.1.1 细胞系和裸鼠	9
2.1.2 工具酶和抗体	9
2.1.3 主要化学试剂和耗材	10
2.1.4 细胞培养试剂	10
2.1.5 主要仪器	11
2.1.6 主要溶液配制	11
2.2 实验方法	13
2.2.1 细胞培养	13
2.2.2 细胞增殖存活率测定 (MTT 法)	14
2.2.3 细胞凋亡的形态学观察 (Hoechst33342 染色)	14
2.2.4 细胞凋亡率检测 (Annexin-V/PI 双染法)	14
2.2.5 细胞周期检测 (PI 单染法)	15
2.2.6 细胞全蛋白抽提	15
2.2.7 分离抽提细胞核、质和线粒体蛋白	15
2.2.8 Western Blot	16
2.2.9 免疫荧光	16
2.2.10 裸鼠皮下成瘤实验	17
2.2.11 数据处理	17
第 3 章 结果与讨论	18

3.1 结果	18
3.1.1 CK 对人胃癌细胞增殖存活率的影响	18
3.1.2 CK 诱导人胃癌细胞凋亡	19
3.1.3 CK 对人胃癌细胞周期分布的影响	23
3.1.4 CK 诱导人胃癌细胞凋亡的分子机制	24
3.1.5 CK 对人胃癌细胞增殖生长影响的体内研究	29
3.2 讨论	33
3.2.1 CK 对人胃癌细胞的存活抑制作用	34
3.2.2 CK 可以有效诱导人胃癌细胞凋亡	34
3.2.3 CK 可以使人胃癌细胞周期阻滞于 G2 期	35
3.2.4 凋亡相关蛋白对 CK 诱导人胃癌细胞凋亡的调控	36
3.2.5 CK 对人胃癌细胞中 Bid 亚细胞定位的影响	38
3.2.6 CK 对人胃癌细胞增殖抑制作用的体内研究	40
结 论	41
参考文献	42
附 录（综述）	46
致 谢	54

Contents

Chapter I Preface	1
1.1 Compound K on the anti-tumor research	1
1.1.1 CK induces apoptosis in tumor cells	2
1.1.2 CK inhibits invasion and metastasis of tumor cells	3
1.1.3 CK inhibits angiogenesis in tumors	4
1.1.4 CK induces cell cycle arrest in tumor cells	4
1.1.5 CK reverses resistance of tumor cells	4
1.1.6 CK induces DNA damage repair	5
1.1.7 Effect of CK on radiosensitization	5
1.2 Bid and tumor	5
1.3 Aims, contents and significance of the projects	8
Chapter II Materials and methods	9
2.1 Materials	9
2.1.1 Cell lines and nude mice	9
2.1.2 Enzymes and antibodies	9
2.1.3 Chemical reagents	10
2.1.4 Reagents for cell culture	10
2.1.5 Equipments	11
2.1.6 Buffers	11
2.2 Methods	13
2.2.1 Cell culture	13
2.2.2 Cell viability (MTT assay)	14
2.2.3 Apoptotic morphology (Hoechst33342 staining)	14
2.2.4 Apoptotic rate (Annexin-V/PI staining)	14
2.2.5 Cell cycle (PI staining)	15
2.2.6 Total protein extraction	15
2.2.7 Cytosolic、nuclear and mitochondrial protein extraction	15
2.2.8 Western Blot	16
2.2.9 Immunofluorescence	16
2.2.10 Tumor xenograft in nude mice	17
2.2.11 Data analysis	17
Chapter III Results and discussion	18

3.1 Results	18
3.1.1 Effect of CK on the viabilities of human gastric carcinoma cells	18
3.1.2 CK induces apoptosis in human gastric carcinoma cells.....	19
3.1.3 Effect of CK on the cell cycle of human gastric carcinoma cells.....	23
3.1.4 Apoptotic molecular mechanisms of human gastric carcinoma cells induced by CK.....	24
3.1.5 Effect of CK on the proliferation of human gastric carcinoma cells <i>in vivo</i>	29
3.2 Discussion.....	33
3.2.1 Inhibition effect of CK on the viabilities of human gastric carcinoma cells	34
3.2.2 CK induces apoptosis in human gastric carcinoma cells.....	34
3.2.3 CK induces cell cycle arrest in G2 in human gastric carcinoma cells	35
3.2.4 Expression of apoptosis-related proteins in human gastric carcinoma cells by CK treatment	36
3.2.5 Effect of the site-specific of Bid in human gastric carcinoma cells induced by CK	38
3.2.6 Effect of CK on the proliferation of human gastric carcinoma cells <i>in vivo</i>	40
Conclusions	41
References	42
Appendix (Review)	46
Acknowledgements	54

第 1 章 引言

胃癌 (gastric carcinoma) 是一种常见的消化系统恶性肿瘤, 它约占胃恶性肿瘤的 95% 以上, 居全球肿瘤发病率和死亡率的第二位。胃癌发病年龄以中老年居多, 55-70 岁为高发年龄段, 且男性发病率和死亡率均高于女性, 男女之比约为 2: 1。我国的北方地区如甘肃、宁夏、青海及东北等地属于胃癌高发区, 全国胃癌的平均年死亡率约为 16/10 万^[1]。

胃癌的病因非常复杂, 它的发生是一个多步骤、多因素进行性发展的过程。在正常情况下, 胃粘膜上皮细胞的增殖和凋亡之间保持动态平衡。这种平衡的维持有赖于癌基因 (oncogene)、抑癌基因 (tumor suppressor gene) 及一些生长因子 (growth factor) 的共同调控。它一旦被破坏, 即癌基因被激活, 抑癌基因被抑制, 生长因子参与以及 DNA 微卫星不稳定, 使胃上皮细胞过度增殖而又不能启动凋亡信号, 则可能逐渐进展为胃癌。环境和饮食、幽门螺杆菌感染、遗传和癌前病变等因素都会影响上述调控体系, 共同参与胃癌的发生^[1]。同时, 已有的研究还显示, 不同分化程度类型的胃癌, 其发生发展的分子机制也存在一定程度的差异, 提示了不同病理类型的胃癌受到不同信号传导通路的调控^[2]。

目前, 胃癌的临床治疗手段以手术、内镜下治疗和化疗为主, 而预后却不能令人满意。近年来, 随着肿瘤多学科综合治疗的广泛兴起, 胃癌的防治手段有了一定的进步。但是, 由于胃癌本身所具有的生物学特性, 如对化疗药物的敏感性较低、对放射线敏感性较低等, 使其成为目前尚缺乏有效治疗手段的疾病, 5 年总生存率仍仅为 10% 左右^[3]。因此, 在我国积极开展胃癌的基础与临床防治研究, 特别是运用现代分子生物学技术揭示胃癌发生发展过程中的重要机制, 加强针对胃癌的特异性分子靶点治疗药物的开发研究, 为胃癌的防治提供新的思路和策略, 具有非常重要的意义。

1.1 Compound K 的抗肿瘤研究

Compound K (20-O-beta-D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol, CK, 图

1-1), 又称为 IH-901 或 M1, 是二醇型人参皂甙如 Rb1、Rb2、Rc 等在肠道细菌作用下的最终代谢产物^[4]。研究证实, 口服人参皂甙后, 在血液中发现的是一种仅在 C-20 保留一个葡萄糖的次生皂甙, 这就是 CK^[5]。近年来, 国内外学者对 CK 进行了一系列的相关研究, 发现它在抗肿瘤、抗炎、抗衰老和保肝等方面均表现出较高活性。与此相关的研究正活跃在神经系统疾病^[6]、皮肤病^[7]、内分泌疾病^[8]及消化系统疾病^[9]等领域。其中, CK 在抗肿瘤方面所具有的药理价值尤其引人注目, 它在抗肿瘤药物的研发中显示出极大潜力。

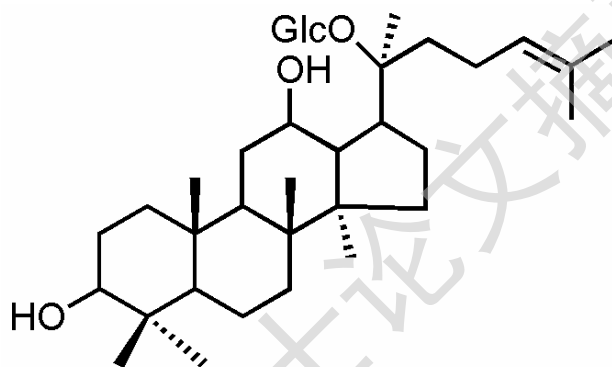


图 1-1 CK 的化学结构

Fig. 1-1 The chemical structure of CK

目前的研究显示, CK 的抗肿瘤作用机制主要包括以下几个方面:

1.1.1 CK 诱导肿瘤细胞凋亡

研究证实, CK 可以有效的诱导多种肿瘤细胞凋亡。Wakabayashi 等^[10]发现当 CK 浓度达到 40 μM 时, 能够在 24 h 内引起 B16-BL6 细胞发生凋亡。Lee 等^[11]观察经 CK 处理后荧光染色的 HL-60 细胞, 发现细胞呈现染色质凝聚、细胞皱缩及核断裂等典型的细胞凋亡形态学改变, 酶免疫测定法和流式细胞术检测结果进一步证实了凋亡的存在。Choi 等^[12]证实 CK 具有诱导人骨髓瘤细胞凋亡的能力。Ming 等^[13]也发现 CK 可以诱导 SMMC7721 细胞凋亡。Park 等^[14]的研究同样显示, CK 能够有效诱导 SV-40 转染的大鼠星状肝细胞发生凋亡。

在 CK 诱导肿瘤细胞凋亡的分子机制方面, Wakabayashi 等^[10]发现, 在 B16-BL6 细胞中, CK 可以迅速地上调 p27^{kip1}, 而下调 c-Myc 和 cyclin D1 的表

达水平。Lee 等^[11]认为 CK 是通过激活 Caspase-3 蛋白酶而引起细胞线粒体细胞色素 *c* 的释放来诱导 HL-60 细胞凋亡的。他们的研究并没有发现 CK 影响 Bcl-2 的表达。Oh 等^[15]对 CK 诱导肝癌细胞凋亡的分子机制进行了较为全面的研究。他们发现, 用 CK 处理肝癌细胞 HepG2 后, 线粒体膜电位下降和细胞色素 *c* 释放到细胞质, Caspase-3、Caspase-8 和 Caspase-9 被激活, p53 和 Bax 的表达水平升高, PARP 水解作用增强。CK 还引起 Bid 被 Caspase-8 剪切, 剪切后所形成的 tBid 被转运到线粒体内进一步促进细胞色素 *c* 的释放。这些结果均证实了 CK 诱导 HepG2 细胞凋亡受到线粒体通路的调节。他们还发现, 用 CK 处理 HepG2 细胞 18 h 后, 胞内 Fas/Fas L 的 mRNA 和蛋白水平明显下降, 而在细胞培养液中则检测出可溶性 Fas L 水平升高。Cho 等^[16]对 CK 诱导人淋巴瘤细胞 HL-60 凋亡的研究证实, Caspase-8 在其直接激活 Caspase-3 或间接通过 Bid 剪切、细胞色素 *c* 释放及 Caspase-9 激活的途径参与凋亡调节中, 起着关键性的作用。Choi 等^[17]对人星形细胞瘤的研究证实了 CK 可以通过调节各种不同的信号通路来提高 Fas 介导的细胞凋亡水平。Kim 等^[18]还发现, CAMK-IV/AMPK 通路参与调节了 CK 诱导大肠癌细胞 HT-29 的凋亡过程。另外, Yim 等^[19]的研究则表明, COX-2 能够抑制 CK 诱导的肿瘤细胞凋亡。

1.1.2 CK 抑制肿瘤细胞的侵袭转移

Wakabayashi 等^[20]的研究结果表明, CK 能在小鼠体内抑制黑色素瘤细胞 B16-BL6 肺转移和在体外抑制肿瘤细胞的侵袭与转移。Hasegawa 等^[21]研究发现, CK 可以抑制人纤维肉瘤细胞 HT1080 侵袭基底膜生长, 它的这种抑制能力比细胞整合素功能抑制多肽强 1000 倍。他们将 Lewis 肺癌细胞注射到同源 C57BL/6 小鼠皮下, 以此建立自发性肺转移模型, 并同时给予 CK 和 5-FU 进行对比治疗。结果发现, CK (10 mg/kg) 不能有效地抑制肿瘤形成, 却表现出明显的抑制肿瘤转移作用 (CK 治疗组肿瘤转移率仅为对照组的 43%), 与 5-FU 治疗组 56% 的转移率相比, CK 显示出较好的抑制肿瘤转移效果。Jung 等^[22]对人额叶星型胶质瘤细胞 U87MG 的研究发现, CK 能够显著地抑制由 PMA 诱导的 U87MG 在体外的侵袭性。Choo 等^[23]还发现, CK 可以抑制 TNF- α 介导的小鼠结肠癌转移。

关于 CK 抑制肿瘤细胞侵袭转移的分子机制, Hasegawa 等^[21]发现 CK 抑制

了 HT1080 细胞分泌 IV 型胶原酶和血小板凝集作用。Jung 等^[22]的研究表明, CK 抑制了 MMP-9 基因的启动子活性, 从而降低 MMP-9 mRNA 水平, 以此达到降低 PMA 诱导的 MMP-9 表达与分泌的目的。Choo 等^[23]的研究发现, CK 通过抑制 TNF- α 介导的 MMP-9 mRNA 的表达, 而对 TNF- α 介导的 MMP-2 mRNA 表达水平则无显著影响。这些结果说明, CK 能够通过下调 NF- κ B 信号通路的激活而选择性地抑制 MMP-9。

1.1.3 CK 抑制肿瘤血管生成

Suda 等^[24]的研究表明, CK 通过抑制血管生成, 从而对转移至肝脏的结肠癌细胞 26-L5 生长具有显著的抑制作用。他们发现, 26-L5 细胞的条件培养基 CM-L5 在体外能够通过 VEGF 诱导肝窦内皮 (HSE) 细胞的管腔形成, 这被认为是肝内肿瘤血管生成的重要步骤。无毒剂量的 CK 即能抑制 CM-L5 的该活性, 阻碍 HSE 细胞的增殖与管腔形成, 以此抑制肿瘤血管的生成, 达到抑制肿瘤生长和转移的目的。

1.1.4 CK 引起肿瘤细胞周期阻滞

Kang 等^[25]研究发现, 经 CK 处理后的 U937 细胞显示出 p21 表达增多, 从而抑制 cyclin D、cdk4 和 cyclin E 的活化, 并诱导 JNK 和转录因子 AP-1 的激活, 使 U937 细胞在 G1 期发生阻滞。Yim 等^[19]的研究结果也指出, 用 CK (40 μ M) 处理 48 h, 可以使 Hep3B、MDA-MB-231、Hs578T 和 MKN28 等细胞发生 G1 期阻滞。另外, Ming 等^[13]也发现, CK 可以致使 SMMC7721 细胞阻滞于 G0/G1 期。

1.1.5 CK 逆转肿瘤细胞耐药性

研究表明, CK 可以有效地逆转肿瘤细胞耐药性。Hasegawa 等^[26]发现, 道诺霉素和长春碱分别与 CK 联用后, 能不同程度地增强二者对耐阿霉素白血病细胞 P338 的细胞毒性, 其效果分别为单用的 4-46 倍和 2-37 倍。Lee 等^[11]的研究显示, CK 对人肺癌细胞 PC-14 的 IC₅₀ 为 25.9 μ M, 这个值显著地高于 CDDP 对 PC-14 的 IC₅₀。而对人肺癌细胞株耐顺铂亚系 PC/DDP, CK 与 CDDP 的 IC₅₀ 则分别为 20.3 μ M 和 60.8 μ M。这个结果表明, CK 对 CDDP 耐受型肺癌细胞具

有明显的抑制作用，而且不与 CDDP 发生交叉耐药性。

1.1.6 CK 诱导 DNA 损伤修复

DNA 损伤是正常细胞发生恶变从而导致肿瘤发生的一个重要机制。Cai 等^[27]研究证实，CK 对经 UVB 辐照诱导凋亡的 HaCaT 细胞具有保护效应。他们发现，HaCaT 细胞在暴露于 UVB 环境 12 h 后，随着 CK 处理浓度的增加，环丁烷嘧啶二聚体（一种 DNA 损伤产物）的表达量逐渐减少。作为核苷酸切除修复的两个代表蛋白，XPC 和 ERCC1 的表达量则随着 CK 浓度的增加而增加。这些结果充分说明了，CK 能够通过诱导 DNA 损伤修复来抑制紫外辐照诱导的细胞凋亡。

1.1.7 CK 的放射增敏效应

Chae 等^[28]用 CK 预处理人肺癌细胞 NCI-H460 后，发现 γ 射线诱导的细胞凋亡水平被显著提高。同时，他们还建立了裸鼠皮下移植瘤的动物模型，体内实验的结果与体外研究的结论一致，即 CK 能与 γ 射线形成协同效应，增强对肺癌细胞 NCI-H460 在体内外的抑制作用。这一研究结果提示，CK 很可能具有放射增敏剂的研发价值。

综上所述，目前，对于 CK 的抗肿瘤研究仍然有限，大多数的研究仅仅揭示了 CK 具有抗肿瘤的药理作用，对于其机制的研究更多地停留于细胞学水平，且进行的体内研究偏少。特别是，CK 与胃癌关系的研究尚未见文献报道。

1.2 Bid 与肿瘤

目前，抗肿瘤药物研究是肿瘤防治研究最活跃的领域之一。分子靶点治疗 (molecular target-based therapy) 和分子靶向治疗 (molecular target-directed therapy) 成为抗肿瘤药物研发的主要方向。长期以来，为了克服细胞毒类抗肿瘤药选择性差，毒性大的弊端，研究人员一直在努力寻找能特异识别并杀伤肿瘤细胞的药物。随着肿瘤细胞分子生物学的迅速发展，针对肿瘤发生、发展机制的分子靶点治疗药和将细胞毒性物质或非毒性前体药靶向导入肿瘤组织的分子靶向治

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库